



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E FÍSICA

QUÍMICA BACHARELADO

ELLEN SHIRMENE DE SOUZA CRUZ

UTILIZAÇÃO DE SOLVENTES EUTÉTICOS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DA *UNCARIA TOMENTOSA*(WILLD.) DC.

AREIA, PB

2018

ELLEN SHIRMENE DE SOUZA CRUZ

UTILIZAÇÃO DE SOLVENTES EUTÉTICOS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DA *UNCARIA TOMENTOSA*(WILLD.) DC.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Química da
Universidade Federal da Paraíba como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Química.

Orientadora: Dayse das Neves Moreira

AREIA, PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C957u Cruz, Ellen Shirmene de Souza.

Utilização de Solventes Eutéticos na Extração de
Compostos Bioativos da Uncaria Tomentosa (WILDD.) DC. /
Ellen Shirmene de Souza Cruz. - Areia, 2018.
37 f. : il.

Orientação: Dayse Moreira.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Unha-de-gato, Polifenóis Extraíveis Totais. 2.
Solventes Eutéticos Profundos. 3. Método
Espectrofotométrico. I. Moreira, Dayse. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA


ELLEN SHIRMENE DE SOUZA CRUZ

UTILIZAÇÃO DE SOLVENTES EUTÉTICOS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DA UNCARIA TOMENTOSA (WILLD.) DC.


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Química da
Universidade Federal da Paraíba como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Química.

Aprovada em: 16/07/2018.

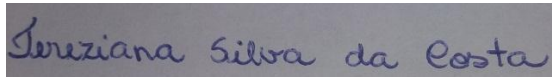
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Dayse das Neves Moreira (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Maria Betania Hermenegildo dos Santos
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Mas. Tereziana Silva da Costa
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus primeiramente que iluminou este caminho longo e aos meus pais e familiares que me apoiaram, não me deixaram desistir e principalmente acreditaram em mim. Mãe e pai seus cuidados me mostraram a perseverança para seguir. A presença de vocês significou segurança e certeza de que não estou sozinha.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente por todas as oportunidades, e por me permitir forças em cada momento.

Aos meus pais, Emílio e Fideraide, pelo apoio e o amor incondicional, que me dão segurança e conforto para caminhar e não me deixaram desistir quando quis fraquejar e ao meu filho Henry que por ele busco sempre o melhor para nós.

A minha orientadora Dayse das Neves Moreira que me repassou todos os conhecimentos necessários, me ajudou para a realização deste trabalho, toda atenção prestada durante as dificuldades encontradas e principalmente teve muita paciência.

A técnica do laboratório Tereziana Silva da Costa que não mediu esforços, me ensinou bastante e deixou seu trabalho de lado pra me ajudar.

Aos meus colegas de turma Ana Cláudia, Joseilson Silva, Joabel Freire, Jânio Félix, Carlos Alberto e Emmanuel Aleff, que além de amigos passaram a ser irmãos. Agradeço por todas as interações vividas, em especial as tantas harmoniosas. Foi um prazer aprender junto com vocês durante todo esse tempo.

As minhas amigas Camila Macaúbas e Tália Natíria que sempre estavam me dando força quando pensei em desistir.

A todos aqueles que, mesmo que indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e, mais ainda colaboraram para que eu pudesse aproveitar esse tempo de graduação.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível.” (Charles Chaplin).

RESUMO

A *Uncaria tomentosa*, popularmente conhecida como unha-de-gato é uma planta trepadeira, que está entre as plantas com potencial terapêutico e econômico significativo, devido aos componentes alcaloides e fenólicos que compõem os grupos mais importante de metabólitos secundários observados na espécie. Os Solventes Eutéticos Profundos (DES) são misturas de compostos com ponto de fusão inferior ao de qualquer um de seus componentes e graças à possibilidade de adequar suas propriedades para fins específicos, tornaram-se de crescente interesse tanto para a pesquisa quanto para a indústria. Considerando a diversidade de compostos fenólicos e sua distribuição diferenciada, este trabalho teve como objetivos a extração, e quantificação dos compostos fenólicos da planta *Uncaria Tomentosa*, na presença do aditivo DES [betaina][ureia]. O DES foi adicionado ao etanol para extração de compostos fenólicos e o conteúdo desses compostos foi determinado, segundo os métodos espectrofotométricos usando o reagente Folin-Ciocalteu. Os resultados obtidos mostram aumento de Polifenóis Extraíveis Totais (PET) com o aumento da concentração de DES, porém estes valores foram inferiores ao conteúdo de PET obtido na extração apenas com etanol. Mais estudos precisam ser realizados com diferentes concentrações e quantidade de DES, para estimular e direcionar a continuidade da pesquisa.

Palavras-chave: Unha-de-gato, Polifenóis extraíveis totais, Solventes Eutéticos Profundos, Método espectrofotométrico.

ABSTRACT

Uncaria tomentosa, popularly known as cat's claw is a climbing plant, is among plants with significant therapeutic and economic potential due to the alkaloid and phenolic components that make up the most important groups of secondary metabolites observed in the species. Deep Eutectic Solvents (DES) are mixtures of compounds with a lower melting point than any of its components and thanks to the ability to tailor their properties for specific purposes, have become of growing interest for both research and industry. Considering the diversity of phenolic compounds and their differentiated distribution, this work had as objectives the extraction and quantification of the phenolic compounds of the *Uncaria Tomentosa* plant, in the presence of the additive DES [betaine] [urea]. DES was added to ethanol for extraction of phenolic compounds and the content of these compounds was determined using spectrophotometric methods using the Folin-Ciocalteu reagent. The results obtained show an increase of total extractable polyphenols (PET) with the increase of the DES concentration, but these values were lower than the PET content obtained in the extraction with ethanol alone. More studies need to be performed with different concentrations and amount of DES to stimulate and direct the continuity of the research.

Keywords: Catheter, Total Removable Polyphenols, Deep Eutectic Solvents, Spectrophotometric Method.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Localização dos principais regiões, destacados em verde, do gênero <i>Uncaria</i> .	18
FIGURA 2 - Espinho da espécie <i>Uncaria tomentosa</i>	19
FIGURA 3 - Órgão floral de <i>Uncaria tomentosa</i>	19
FIGURA 4 – Alcalóides oxi-indólicos presentes na <i>Uncaria</i>	21
FIGURA 5 - Estrutura Química dos Flavonóides.....	23
FIGURA - 6 Estruturas químicas de diferentes compostos que podem formar misturas eutéticas.....	25
FIGURA 7 - Preparação do DES.....	26
FIGURA 8 - Sistema de extração.....	27
FIGURA 9 - Esquema para determinação da curva padrão de Ácido Gálico.....	29
FIGURA 10 - Espectrofotômetro.....	29
FIGURA 11 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	30
FIGURA 12 - Curva de calibração do Ácido gálico	31
FIGURA 13 - Coloração do PET.....	32
FIGURA 14 - Polifenóis extraíveis totais da <i>Uncaria tomentosa</i> extraídos com diferentes concentrações de DES.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Usos tradicionais da <i>Uncaria tomentosa</i> e suas aplicações.....	20
TABELA 2 - Composição do DES.....	26
TABELA 3 - Preparo das soluções para curva-padrão do ácido gálico.....	28
TABELA 4 - Média e Desvio Padrão das Extrações.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LIIs	Líquidos Iônicos
DES	Deep Eutetic Solvents (Solventes Eutéticos Profundos)
HBD	Hydrogen Bond Donor (Doador de Ligação De Hidrogênio)
U. TOMENTOSA	Uncaria Tomentosa
T _m	Temperatura De Fusão
T _g	Temperatura De Transição Vítreas
Emim	Etil Metil Imidazol
TBP	Tetrabutylfosfônio
AA	Aminoácido
Gly	Glicina
Ala	Alanina
Val	Valina
HBA	Hydrogen Bond Aceptor (Aceitador de Ligação de Hidrogênio)
FD	Fator de Diluição
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
PET	Polifenóis Extraíveis Totais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1 Material em Estudo: <i>Uncaria tomentosa</i> (UNHA-DE-GATO).....	18
3.2. Componentes Químicos da <i>Uncaria tomentosa</i>	20
3.3 Compostos Fenólicos.....	22
3.4 Solventes Eutéticos Profundos: Síntese e Aplicação na Extração De Alcalóides.....	23
4 METODOLOGIA.....	25
4.1 Preparação dos Solventes Eutéticos Profundos.....	26
4.2 Extração de Polifenóis do Material Vegetal.....	27
4.3 Curva Padrão do Ácido Gálico e Determinação do conteúdo total de fenois.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6 CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A Química é um ramo da Ciência da Natureza que estuda a matéria, suas propriedades, constituição, transformações e a energia envolvida nesses processos e possui um grande impacto sobre a nossa sociedade, tanto no âmbito tecnológico quanto científico. No entanto, os processos químicos também podem causar prejuízos ao meio ambiente, fato este que já vem sendo destacado por pesquisas na área de Química Ambiental. Neste contexto, pesquisadores de diversas áreas da química tem buscado o desenvolvimento de técnicas e metodologias que tenham caráter ambientalmente amigável e limpo, seja este em nível acadêmico ou em atividades industriais (SILVA, 2004). O desenvolvimento desses processos alternativos tem focado nos Princípios da Química Verde, especialmente naqueles que visam a diminuição da quantidade de resíduos gerados ao final das reações, da substituição, redução ou eliminação de reagentes e/ou solventes tóxicos ou que gerem produtos e sub-produtos tóxicos, sendo estes nocivos à saúde humana ou ao ambiente (FERREIRA et al., 2013). Dessa forma, a contribuição de projetos voltados para a Química Verde é de grande importância e interesse para garantir a proteção ambiental, a gestão de materiais tóxicos e seu ciclo de vida e o desenvolvimento de materiais que possam substituí-los. A Química Verde incentiva uma produção mais limpa e com menos poluentes industriais, garantindo que os fabricantes assumam uma maior responsabilidade para os produtos que eles produzem (SILVA, 2004; FERREIRA et al., 2013).

Para solucionar os inúmeros problemas causados em decorrência de processos químicos, têm se destacado à busca por solventes “verdes”, a fim de substituir os solventes convencionais e, conseqüentemente, levando a redução da quantidade de resíduos orgânicos o que diminui o impacto ambiental. Os Líquidos Iônicos (LIs) são solventes que tem recebido grande atenção no âmbito da Química Verde, por serem considerados potencialmente mais eficientes e ambientalmente amigáveis, podendo ser reciclados e reutilizados por várias vezes sem perda significativa de sua atividade como solvente e/ou catalisador. Geralmente, são sais orgânicos formados por um ânion inorgânico e um cátion orgânico cujo ponto de fusão é inferior a 100°C. Qualquer composto que apresente uma estrutura cristalina iônico-covalente que esteja no estado líquido, como por exemplo, misturas eutéticas ou combinações organominerais, a princípio, pode ser considerado um líquido iônico (EMMA et al., 2014).

Propriedades como baixa volatilidade, caráter não-inflamável, alta estabilidade térmica e alta capacidade de hidratação, permitem que os LIS sejam utilizados como solventes adequados em processos catalíticos, processos de separação, como eletrólitos para baterias,

fotoquímica, eletropolimerização, etc. Os LIs apresentam desvantagens como sua viscosidade que dificulta a agitação e a homogeneização do meio reacional, e torna lenta a dissolução de algumas substâncias, enquanto a sua pressão de vapor nula impede que possam ser removidos a pressão reduzida, de modo que os produtos têm muitas vezes de ser obtidos por extração com solventes. Por outro lado, apresentam um custo maior que a maioria dos solventes convencionais, e a sua toxicidade é mal conhecida.(OLIVEIRA et al., 2010)

Para superar as limitações dos LIs, surgiram os solventes eutéticos profundos (*Deep Eutectic Solvents* - DES), que são misturas eutéticas oriundas de um sal de amônio com um composto que possa fazer ligações de hidrogênio, ou seja, um sal quaternário com um doador de ligação de hidrogênio (*Hydrogen Bond Donor* - HBD) em temperatura ambiente, como ureia, ácido ou amina. Também chamados líquidos iônicos de terceira geração, os DES são mais facilmente obtidos com elevada pureza e baixo custo, apresentando também, em geral, toxicidade baixa ou mesmo nula, o que representa uma importância mais significativa em relação aos LIs. Um DES é um tipo de solvente composto de um sal com um HBD à temperatura ambiente que tem um ponto de fusão mais baixo do que qualquer um dos componentes individuais. Além disso, DESs, são aplicados para a modificação de alguns materiais, tais como polímeros ou sílica, e estes materiais modificados por DESs têm sido aplicados para a extração ou separação de compostos em virtude das suas interações (EMMA et al., 2014; LOPES et al., 2014).

Recentemente, o DES vem sendo utilizado como uma nova opção para extrair metabólitos secundários, como compostos fenólicos, em vez de solventes orgânicos convencionais. Hoje em dia, este princípio está sendo ampliado para a criação de solventes projetados, usando várias combinações de HBA (*Hydrogen Bond Donor*) e HBD (*Hydrogen Bond Aceptor*), com propriedades compatíveis para dissolver rigorosamente e extrair compostos naturais e bioativos de plantas, óleos ou biomassa, valorizando produtos naturais ou resíduos como fonte de compostos valiosos (VIEIRA et. al, 2018).

Compostos fenólicos são substâncias fitoquímicas originadas do metabolismo secundário de algumas espécies vegetais, onde desempenham um papel essencial para seu crescimento e reprodução. Esse grande e complexo grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de plantas, frutas e produtos industrializados. Estes compostos dividem-se em flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos). Esses compostos têm sido amplamente estudados por possuírem importantes propriedades biológicas como, anti-inflamatórias, antivirais, analgesia, anticarcinogênica, antimicrobiana e antioxidante. De

maneira geral, a ação benéfica dos compostos fenólicos na saúde humana tem sido relacionada com a sua atividade antiinflamatória e com a atividade que impede, não só a aglomeração das plaquetas sanguíneas, mas também a ação de radicais livres no organismo, fazendo com que protejam moléculas como o DNA, podendo vir a abortar alguns processos carcinogênicos (DURAND et al., 2017).

Os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila adjacentes localizados em várias posições dos anéis A, B e C, as duplas ligações dos anéis benzênicos e a dupla ligação da função oxo ($-C=O$) de algumas moléculas de flavonóides garantem a esses compostos sua alta atividade antioxidante. (SILVA et al., 2010).

As técnicas mais utilizadas para a extração dos compostos fenólicos são extrações líquido-líquido ou extrações em fase sólida. Para a extração são empregados solventes, principalmente solventes orgânicos, como por exemplo acetona e acetato de etila, metanol, etanol e propanol ou suas misturas. Apesar de que os solventes orgânicos tenham excelente capacidade de dissolução e extração, eles apresentam muitas contrariedades específicas, como acúmulo na atmosfera (baixos pontos de ebulição), inflamabilidade, alta toxicidade, não biodegradabilidade e custo (DURAND et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Considerando a necessidade de desenvolvimento de metodologias para a extração de compostos bioativos presentes em produtos naturais, os objetivos gerais desse projeto estão relacionados com a síntese de DES e a sua aplicação no processo de extração de compostos fenólicos totais da casca da *Uncaria tomentosa* (Unha-de-gato).

2.2 Objetivos Específicos

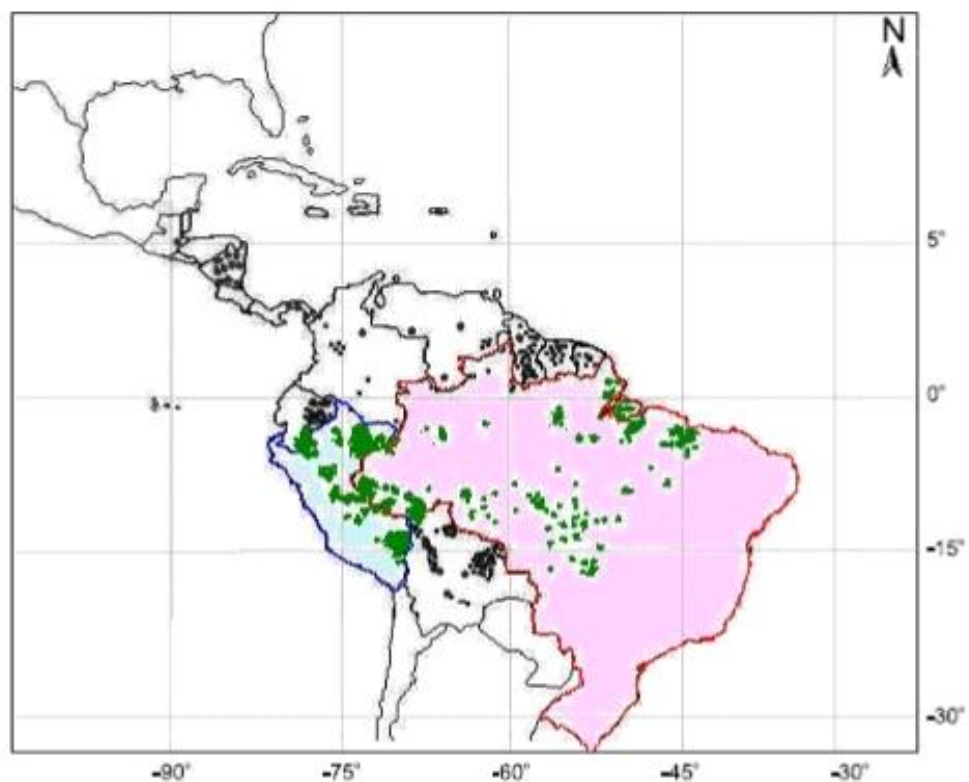
- Avaliar o DES como solventes para favorecer a extração de compostos bioativos presentes na casca da *Uncaria tomentosa*;
- Estudar e coletar informações sobre a utilização e aplicação da espécie;
- Divulgar os resultados obtidos, mostrando a utilização de DES na extração das substâncias bioativas da espécie;
- Sintetizar DES a partir de uréia e betaína.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Material em Estudo: *Uncaria tomentosa* (UNHA-DE-GATO)

A *Uncaria tomentosa* é uma planta trepadeira e pertence à Família Rubiaceae, estão entre as plantas com potencial terapêutico e econômico significativo, ocorrem em florestas tropicais, especialmente na Amazônia, em áreas como Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guatemala, Guiana, Guiana, Honduras, Nicarágua, Panamá, Peru e Venezuela e está distribuída principalmente nos estados do Acre, Amapá, Amazonas e Pará (Figura 1) (HONÓRIO, 2016).

Figura 1 - Localização das principais regiões, destacados em verde, do gênero *Uncaria*.



Fonte: Modificado de POLITTO, 2006

Há mais de 2000 anos, existem relatos de que a unha-de-gato já era utilizada pelos Incas e povos indígenas do Peru – Asháninka, Aguaruna, Cashibo e Canibo – para o tratamento de doenças como asma, feridas profundas, artrite, reumatismo e inflamações em geral (TAYLOR, 2002).

O termo "tomentosa" vem da observação de nervuras salientes, com a aparência de veias finas na superfície inferior das folhas, por isto é popularmente conhecida como unha de gato, uma designação relacionada com sua morfologia vegetal (Figuras 2 e 3). Possui espinhos sobre a haste, que são muito semelhantes às unhas, suas folhas são perenes, as flores são amarelo-branco, e os espinhos são afiados e de consistência lenhosa (HONÓRIO, 2016).

Figura 2 - Espinho da espécie *Uncaria Tomentosa* (willd.)



Fonte: BIESKI (2006)

Figura 3 - Órgão Floral de *Uncaria tomentosa*.



Fonte: BIESKI (2006)

Na *U. tomentosa*, os alcaloides estão presentes nas flores (2,10%), folhas (1,59%), casca do caule (0,50%), ramos de espinhos (0,32%) e raiz (1,00-2,00%). Um estudo realizado com a *U. tomentosa* mostrou que o teor de alcaloides oxindólicos variou, tanto na casca do caule (0,328-2,591%), folhas (0,360-4,792%) e as sucursais (0,347-1,431%) (HONÓRIO, 2016).

Estudos farmacológicos realizados com extratos da *U. tomentosa* confirmaram seu potencial biológico por apresentarem atividade antioxidante, anti-diabética, antimicrobiano, anti-inflamatório, imuno-estimulante, anti-câncer, e efeitos na doença de Parkinson, como apresentado na Tabela 1 (HONÓRIO, 2016).

Tabela 1 - Usos tradicionais da *Uncaria tomentosa* e suas aplicações

Usos tradicionais da <i>Uncaria tomentosa</i>	Aplicações
Abscesso	Além dos usos citados, por suas habilidades de limpar o trato intestinal, a <i>Uncaria tomentosa</i> é uma planta indicada para o tratamento de várias doenças como: doença de Crohn, diverticulite, síndrome do cólon irritado, colites, hemorroidas, fístulas, vermes, melhora da flora intestinal. É também empregada para: artrites, bursites, reumatismo, herpes genital e herpes zoster, alergias, candidíases sistêmicas, lupus, fadiga crônica, intoxicação ambiental, coadjuvante em depressão e AIDS.
Artrite	
Asma	
Câncer	
Contracepção	
Efeitos colaterais de quimioterapia	
Febres	
Feridas	
Fraqueza	
Hemorragias	
Inflamações	
Inflamações no trato urinário	
Irregularidades menstruais	
Limpeza dos rins	
Prevenção de doenças	
Purificação da pele	
Purificação do sangue	
Reumatismo	
Como revigorante	
Úlcera gástrica	

Fonte: Modificado de VALENTE et al., 2006a.

3.2 Componentes Químicos da *Uncaria tomentosa*

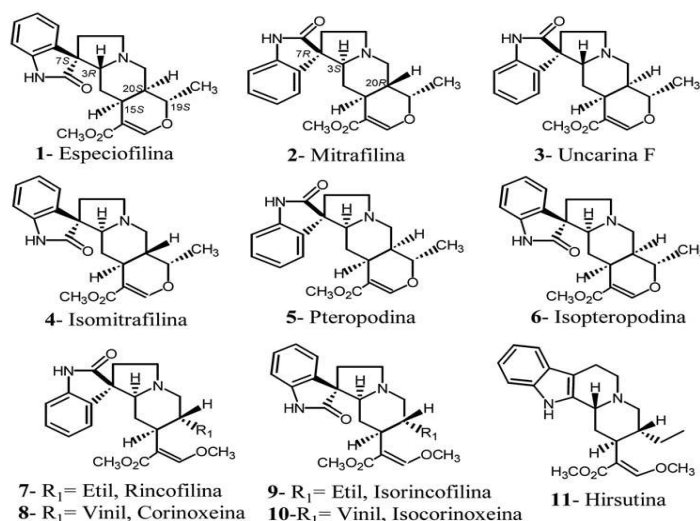
Os alcalóides compõem o grupo mais importante de metabólitos secundários (Figura 4) observados na espécie *U. tomentosa* e podem ser classificados quanto a sua cadeia cíclica de carbonos – tetracíclicos e pentacíclicos – e/ou de acordo com o componente (indolalcalóides ou oxindolalcalóides) (WHO, 2007).

A espécie *U. tomentosa*, destaca-se por sua atividade imuno estimulante, sendo também citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante. Em função de sua propriedade imuno estimulante, *U. tomentosa* é atualmente uma planta de alto valor comercial no Brasil e no

mundo. As cascas do caule e as folhas da espécie são comercializadas in natura ou como fitoterápicos na forma de cápsula ou comprimido. A espécie contém, alcaloides oxindólicos, *N*-oxi-oxindólicos e indólicos, triterpenos glicosilados, taninos e flavonoides (DUAN et al., 2016).

O grupo mais importante que tem sido descrito para a espécie *U. tomentosa*, são os alcaloides metabólitos secundários, que são divididos em alcalóides tetracíclicos (corinanteína, diidrocorinanteína, hirsuteína e hirsutina) alcaloides oxíndolicos (rincofilina, isorincofilina, corinoxeína, isocorinoxeína, rotundifolina e isorotundifolina) alcaloides indólicos pentacíclicos (acuamigina, augustolina, isoamalicina e tetraidroalstonina) e alcaloides oxindólicos (speciofilina, mitrafilina, isomitrafilina, pteropodina, isopteropodina, e uncarin F), e alcaloides glicoindólicos (3 α -diidrocadambina e dolichantosina) (HONÓRIO, 2016).

Figura 4 - Alcalóides oxi-indólicos presentes na *Uncaria*.



Fonte:(VALENTE et al, 2006a)

Nos anos 70, Wagner et al, da Universidade de Munique, Alemanha (WAGNER et al, 1985) estabeleceram que em culturas de células e em animais, quatro alcaloides oxindólicos presentes nas raízes de *U. tomentosa* (isomitrafilina, isopteropodina, R¹ = Vinil, Isocorinoxeína) aumentavam a capacidade das células em digerir e destruir organismos estranhos (fagocitose). Alguns anos depois, Wurm e colaboradores (1998) mostraram que uma mistura dos alcaloides oxindólicos pentacíclicos: especiofilina, mitrafilina, uncarina F, isomitrafilina, pteropodina e isopteropodina induzem células endoteliais a liberar determinado(s)fator(es) que promovia(m) uma grande melhoria na resposta imunológica e, que a adição de pequenas quantidades (1%) dos alcaloides oxindólicos tetracíclicos:

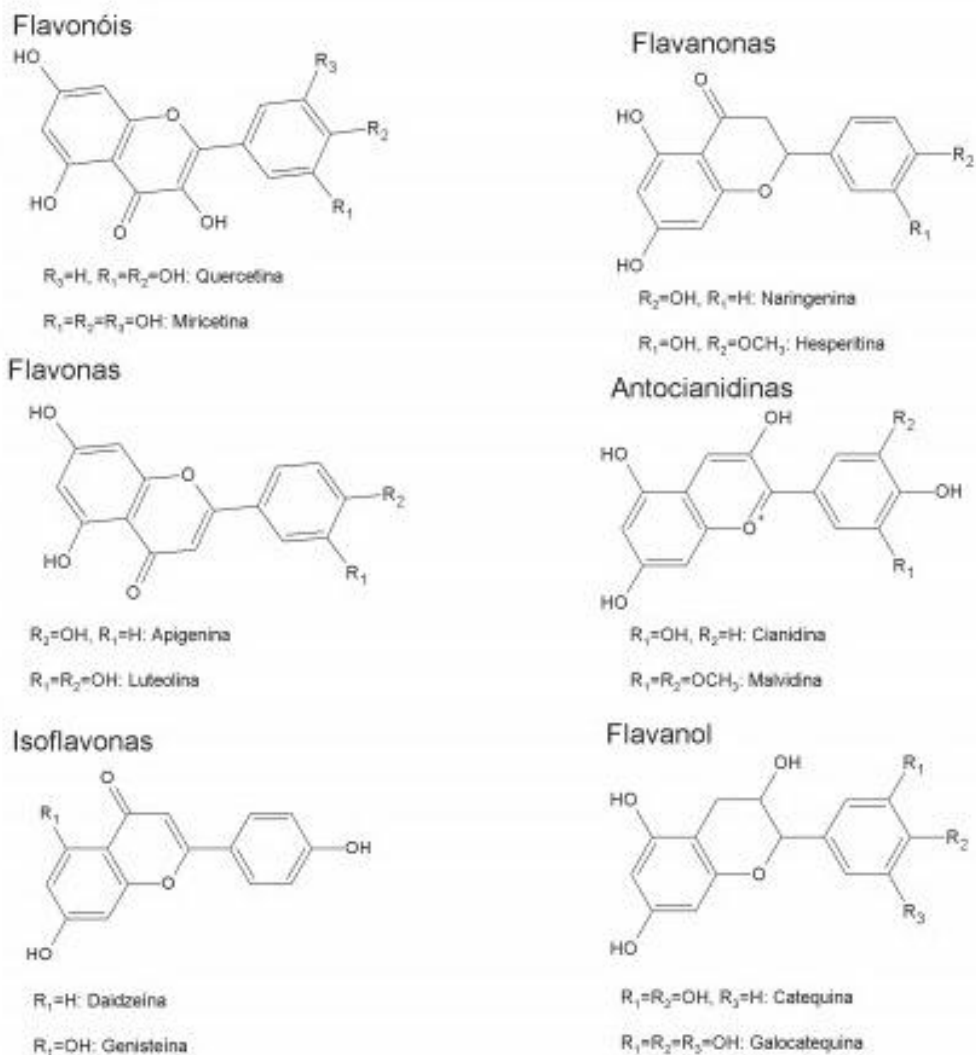
rincofilina e isorincofilina, reduziria, a atividade demonstrada. Esses resultados levaram à produção de extratos de unha-de-gato e sua comercialização como fitoterápico. (VALENTE et al., 2006a)

3.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos caracterizam uma das principais classes de metabólitos secundários, podendo ser sintetizados pela via do ácido chiquímico e/ou pela via do ácido mevalônico. Estes são os compostos que possuem uma, ou mais, hidroxilas ligadas a um anel benzênico e, mesmo que tenham um grupo característico de álcoois, esta classe de compostos possui propriedades especiais, pois são compostos mais ácidos que os álcoois, podendo ser oxidados com maior facilidade. Os polifenóis englobam os compostos fenólicos que possuem múltiplos anéis fenólicos em sua estrutura e podem ser divididos em classes de acordo com o número de anéis fenólicos e os elementos estruturais que ligam estes. (STAHL, 2011)

Esses compostos formam um grupo heterogêneo que inclui uma grande pluralidade de substâncias classificadas quanto à estrutura química, simples ou complexa. Quanto à estrutura química, as classes de compostos fenólicos são caracterizadas pelo número de anéis aromáticos da cadeia e pelo número de carbonos ligados a esta. Assim, fenóis simples, ácidos fenólicos e os fenilpropanóides são exemplos de compostos fenólicos mais simples e estilbenos, flavonóides, ligninas e taninos de compostos fenólicos mais complexos. Por serem aromáticos, esses compostos apresentam intensa absorção na região do UV e, por serem fenólicos, são muito reativos quimicamente. (ARCHELA, 2013)

Dentre as principais classes de compostos fenólicos, os flavonóides constituem a maior delas (Figura 5). Possuem estrutura molecular básica composta por dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de três carbonos, totalizando 15 átomos de carbono que apresentam-se, frequentemente, hidroxila dos e/ou conjugados com moléculas de açúcar. (ARCHELA, 2013).

Figura 5 - Estrutura química dos Flavonóides

Fonte: (ARCHELA, 2013)

Estes compostos são metabólitos secundários das plantas, geralmente incluídos na defesa contra organismos patogênicos ou raios ultravioletas. Assim, os polifenóis são encontrados em uma ampla variedade de frutas, legumes; verduras; e em alimentos e bebidas processados destes, como chá, vinho e outros. As funções dos flavonóides para as plantas são: proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e alelopatia. (ARCHELA, 2013)

3.4 Solventes Eutéticos Profundos: Síntese e Aplicação na Extração de Alcaloides

O crescente impacto sobre o meio ambiente tem colocado a "extração verde" no centro das atenções das comunidades científica e industrial, onde baseia-se na descoberta e geração de processos de extração que reduz o consumo de energia, permitindo a utilização de

solventes alternativos e produtos naturais renováveis (BUBALO et al., 2016). A tecnologia verde facilita o uso de meios não perigosos. Novas técnicas de solubilização que são aceitáveis ao meio ambiente, controlando algumas propriedades físicas como temperatura e pressão, e desenvolvendo novos solventes verdes (BUBALO et al., 2016). Nos últimos anos, os solventes eutéticos profundos (DES) tem se expandido e recebido grande ênfase para substituir os solventes atuais como uma nova alternativa promissora para solventes orgânicos tradicionais (DAI et al., 2013a).

Os DES (Figura 6) são misturas de compostos com ponto de fusão inferior ao de qualquer um de seus componentes e graças à possibilidade de adequar suas propriedades para fins específicos, tornaram-se de crescente interesse tanto para a pesquisa quanto para a indústria, atraindo a atenção como solventes em síntese orgânica e biocatálise, produção de polímeros, eletroquímica, nanomateriais, processos de separação, análise, aplicações biomédicas e extração de compostos biologicamente ativos a partir de materiais vegetais (BUBALO et al., 2016; DAI et al., 2013a).

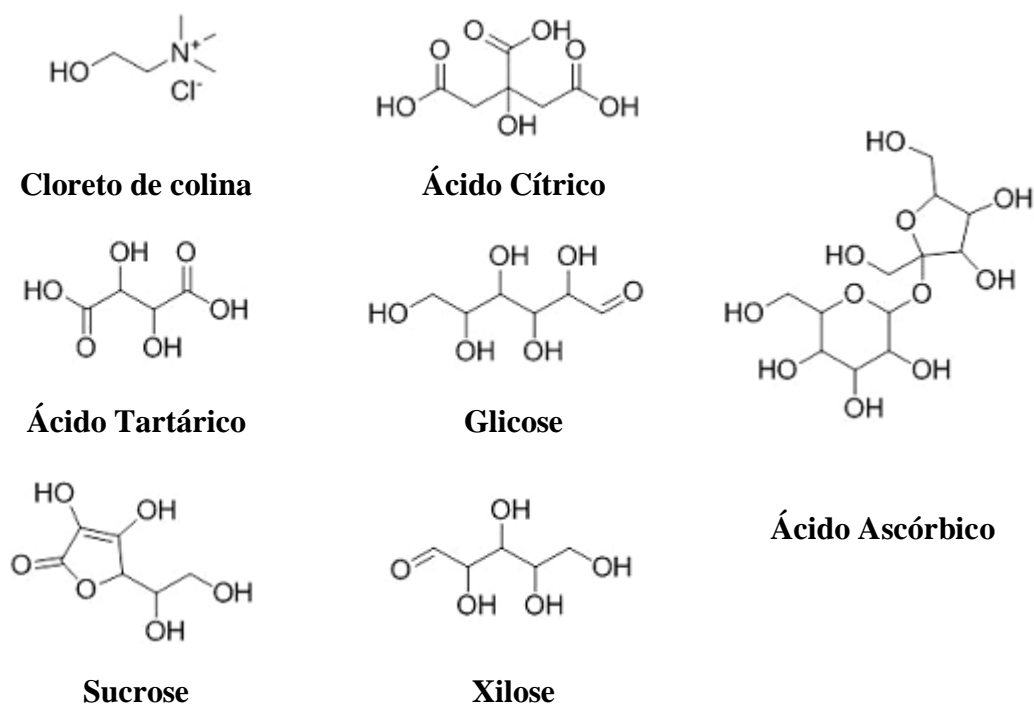
Os produtos naturais são uma fonte abundante e perfeita de componentes de LIs e DESs devido à sua enorme diversidade química, biodegradabilidade, sustentabilidade e perfil de toxicidade farmacologicamente aceitável (Figura 5). Diferentes tipos de biocompostos (ácidos orgânicos, açúcares, poli-álcoois, aminas e aminoácidos) têm sido utilizados para a preparação dos DES, por meio de métodos de preparação bastante simples, uma vez que envolvem apenas agitação à temperatura ambiente ou aquecimento a 100 °C. A temperatura utilizada para a síntese e a temperatura de fusão (T_m) dependem muito de sua composição. No caso dos cátions, a simetria do cátion utilizado diminui, assim como a T_m das misturas, de forma semelhante às dos LIs. A deslocalização que ocorre através da ligação de hidrogênio entre o ânion haleto e a porção doadora de hidrogênio é responsável pela diminuição da T_m da mistura (DAI et al., 2013a).

Duan et al. (2016) descreveram um método verde utilizando DES como aditivos para a extração de diferentes tipos de compostos naturais bioativos. A pesquisa envolveu cinco ervas medicinais chinesas - *Berberidis Radix* (BR), *Epimedii Folium* (EF), *Notoginseng Radix* e *Rhizoma* (NRR), *Rhei Rhizoma et Radix* (RRR) e *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (SMR) - para avaliar a sua eficiência na extração de alcalóides, flavonóides, saponinas, antraquinonas e ácidos fenólicos, respectivamente. Os DESs provaram ser solventes eficientes para a extração de alcalóides, ácidos fenólicos, flavonóides e saponinas, mas demonstraram menor capacidade de extração para antraquinonas. Este trabalho forneceu exemplos práticos

mostrando a sintonia de DESs que extraem seletivamente e eficientemente compostos bioativos de biomateriais (DUAN et al., 2016).

Os produtos naturais são de fato uma fonte abundante e ideal de substâncias para síntese de DES porque possuem muitas vantagens como solventes, como por exemplo, baixo custo, inércia química com água, viscosidade ajustável, fácil biodegradabilidade, toxicidade farmacologicamente aceitável e sustentabilidade, etc (VALENTE et al., 2006b).

Figura 6 - Estruturas químicas de diferentes compostos que podem formar misturas eutéticas.



Fonte: VALENTE et al., 2006b

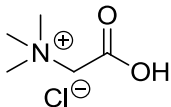
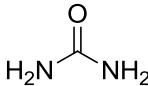
4 METODOLOGIA

Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química e Física (DQF), localizado do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), com exceção das medidas de absorbâncias que foram realizadas no Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheira (LBTPC) do mesmo departamento.

4.1 Preparação dos Solventes Eutéticos Profundos (DES)

A obtenção dos DES foi realizada através da mistura dos reagentes betaína e uréia (1:6), sendo aquecido a 100°C por 2 h, sob agitação constante (Tabela 2) (Figura 7), como descrito por Dai et al. (2013b).

Tabela 2 - Composição do DES

Reagentes	Estrutura	Mmol	PM (g/mol)	Massa Pesada
Betaína		1	153,31	0,1557
Ureia		6	60,06	0,3490

Fonte: Própria

Figura 7 - Preparação do DES



Fonte: Própria

4.2 Extração de Polifenóis do Material Vegetal

A extração foi realizada em um balão de reação de 50 mL com cerca de 0,540 g do material vegetal, que foi adquirido comercialmente em um supermercado na cidade de João Pessoa-PB, juntamente com 5 mL de etanol, em aquecimento no banho de óleo e agitação a 100°C durante 2 h. Utilizou-se um condensador para promover o refluxo do etanol e evitar sua perda por evaporação (Figura 8). A amostra foi transferida para um tubo falcon e colocado na centrífuga a 2000 rpm durante 20 min. A suspensão foi filtrada através de um filtro com porosidade de 0,45µm. As extrações utilizando como solvente o DES, de concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5 mmol, foram realizadas nas mesmas condições descritas anteriormente.

Figura 8 - Sistema de extração



Fonte: Própria

4.3 Curva Padrão do Ácido Gálico e Determinação do conteúdo total de fenóis

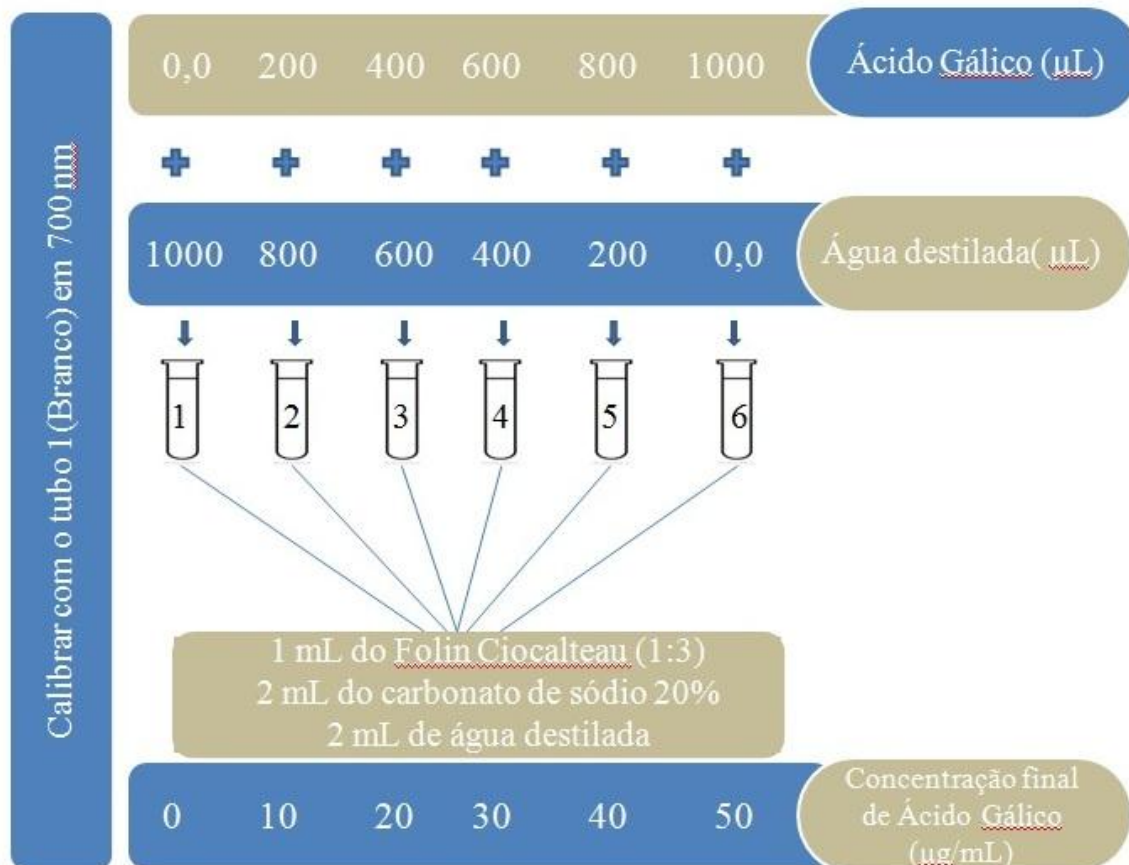
A partir de uma solução padrão de ácido gálico, com concentração $50 \mu\text{g. mL}^{-1}$ foram preparadas as demais soluções para construção da curva de calibração de acordo com a Tabela 3.

Posteriormente foi determinado o conteúdo total de fenóis seguindo o Procedimento Operacional Padrão (POP) do LBTPC. Para isso foi acrescentado 1 mL de Folin Ciocalteau (1:3), 2 mL de carbonato de sódio 20% e 2 mL de água destilada, como é mostrado na Figura 9, homogeneizando cada amostra, deixando em repouso à temperatura ambiente durante 30 min e protegido de luz. Por fim, as amostras foram submetidas à leitura de absorbância em comprimento de onda de 700 nm através de espectrofotômetro Genesys® modelo 10 UV (Figura 10).

Tabela 3 - Preparo das soluções para curva-padrão do ácido gálico.

Solução	Conc. Ác. Gálico ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)	Volume da solução padrão (μL)	Água Destilada (μL)
6	0	0	1000
5	10	200	800
4	20	400	600
3	30	600	400
2	40	800	200
1	50	1000	0

Fonte: (RODRIGUES, 2014)

Figura 9 - Esquema para determinação da curva padrão de Ácido Gálico

Fonte: (RODRIGUES, 2014)

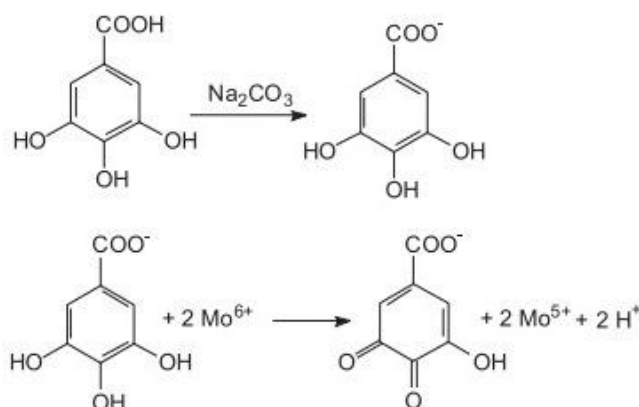
Figura 10 - Espectrofotômetro

Fonte: AMERICAN LABORATORY TRADING

Os extratos foram submetidos ao mesmo procedimento descrito no item 4.1, transferindo-se as amostras para cubetas em ambiente escuro e realizando as leituras de absorvância em espectrofotômetro a 700nm, e a partir dos valores de absorvância foi calculado o teor de PET. Logo após foi feito o gráfico da curva de calibração com as

concentrações de ácido gálico (μg) no eixo x e suas respectivas absorvâncias no eixo y, juntamente com a equação da reta. Com a finalidade de diminuir os erros estatísticos o procedimento foi em triplicata.

Figura 11 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu



Fonte: OLIVEIRA et al., 2009

A quantificação desses compostos é realizada por meio de uma diversidade de métodos; porém, o método que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é o mais utilizado. A Figura 12 mostra a desprotonação dos compostos fenólicos em meio básico, gerando os ânions fenolatos. A partir daí, ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, na qual, o molibdênio, componente do reagente de Folin, sofre redução e o meio reacional muda de coloração amarela para azul (OLIVEIRA et al., 2009).

O cálculo para estimar a quantificação dos Polifenóis Extraíveis Totais (PET) é dada pela seguinte fórmula:

$$PET(g.100g - 1) = \left(\frac{x * FD1 * FD2}{1000} \right) * 100$$

Onde:

x = concentração obtida através da equação da curva padrão do ácido gálico ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), usando a absorvância da amostra como valor de y;

FD1 = (g. ml^{-1}) = Volume final do extrato / massa do material vegetal (g);

FD2 = Volume Final da mistura no tubo de reação (extrato + água destilada) / volume da alíquota de extrato utilizado.

Logo após foi construído o gráfico da curva de calibração com as concentrações de ácido gálico (μg) no eixo x e suas respectivas absorbâncias no eixo y, obtendo-se a equação da reta e o coeficiente de correlação.

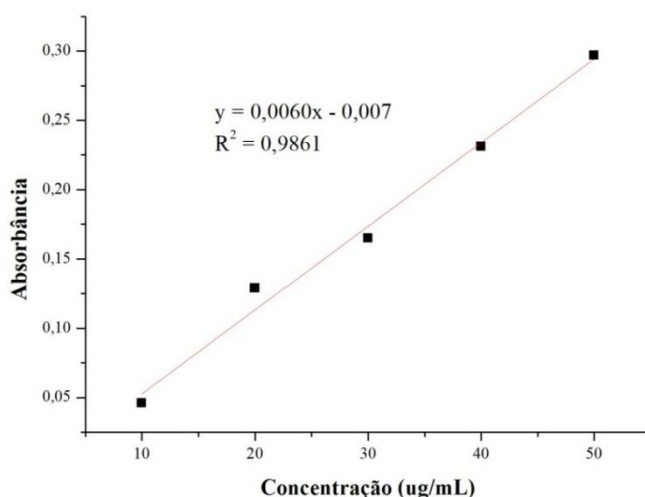
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico obtido a partir da leitura da absorbância, à 700nm, de soluções de ácido gálico com concentração de 10 a 50 $\mu\text{g/mL}$, é mostrado na Figura 12. A equação 1, relaciona os valores de absorbância com a concentração de fenóis totais e o coeficiente de correlação (R^2) obtido foi 0,9861, demonstrando boa linearidade dos valores.

($y = 0,0060x - 0,007$).

Para as medidas de absorbância na determinação de fenólicos totais dos extratos foram usadas alíquotas de 5 μL de cada amostra, definidas a partir de testes preliminares a fim de ajustar as medidas na faixa da curva de calibração, pois é importante que seja definida a faixa de concentração adequada para as medidas quantitativas, na qual a relação entre a absorbância e concentração seja linear.

Figura 12 - Curva de calibração do Ácido gálico



Fonte: Própria

Foram feitas as leituras de 5 μL para todas as concentrações do DES (0,5; 1 e 1,5) apenas com etanol e foram obtidos os mesmos valores, com médias de 0,0015. Posteriormente

foi feita a leitura de 10 μL apenas de etanol para que evitasse surgir interferência, onde foi obtido o valor de 0,00031 e subtraído das médias obtidas das extrações dos polifenóis.

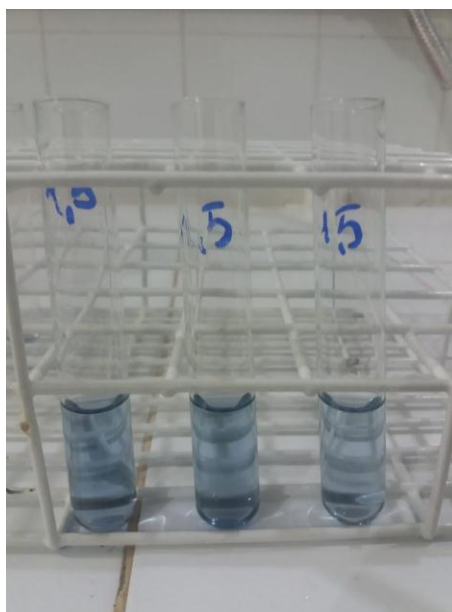
A Tabela 4 apresenta os valores de polifenóis extraíveis totais obtidos dos extratos da espécie *Uncaria tomentosa* e a Figura 13 apresenta a sua coloração.

Tabela 4 - Média e Desvio Padrão das Extrações

Média			
0 mmol	0,5 mmol	1 mmol	1,5 mmol
3965,90	2647,15	2766,06	3183,76
Desvio			
154,44	53,66	190,98	17,21

Fonte: Própria

Figura 13 - Coloração do PET

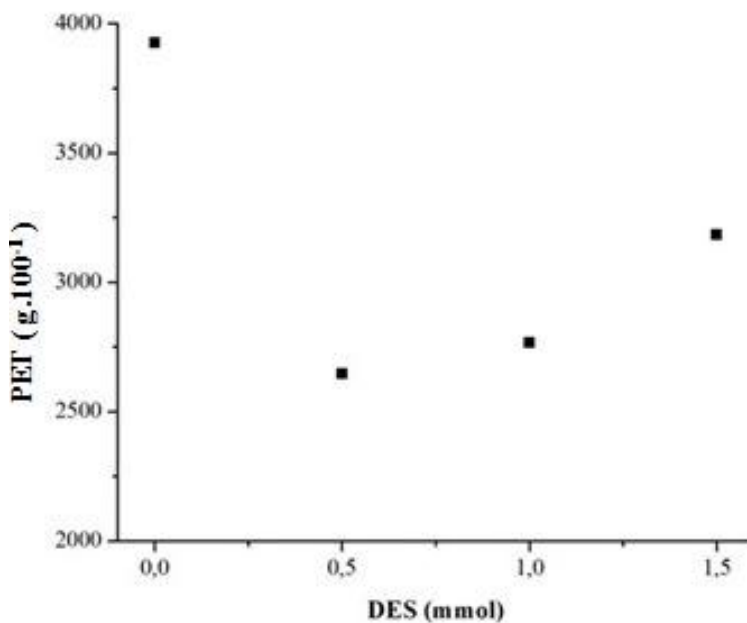


Fonte: Própria

O conteúdo PET foi determinado para as extrações de 0; 0,5; 1 e 1,5 mmol junto com etanol e o material vegetal. Para 0 mmol foram obtidos $3965,90 \pm 154,44 \text{ g} \cdot 100^{-1}$ de extrato, onde foi conferido o maior valor. Para o extrato com 0,5 mmol de DES, foram obtidos $2647,15 \pm 53,66 \text{ g} \cdot 100^{-1}$. Para o extrato com 1,0 mmol de DES, foram obtidos $2766,06 \pm 190,98 \text{ g} \cdot 100^{-1}$. Para o extrato com 1,5 mmol de DES, foram obtidos

$3183,15 \pm 17,21 \text{ g} \cdot 100^{-1}$. Logo, o reagente identificou os polifenóis por possuírem mais facilidade de serem oxidados e serem mais ácidos, através da oxidação de álcoois.

Figura 14 - Polifenóis extraíveis totais da *Uncaria tomentosa* extraídos com diferentes concentrações de DES



É possível observar na Figura 14 que o extrato do material vegetal apenas com etanol possui o valor mais alto comparado as outras extrações que contém DES. Os valores de extração do chá junto com etanol e diferentes quantidades de DES foram crescentes. Onde contém menor valor de mmol de DES foi obtido menor valor de PET (0,5mmol). Ao aumentar a quantidade de mmol, aumenta consequentemente o valor do PET.

6 CONCLUSÃO

Os resultados permitem considerar que a síntese dos compostos fenólicos da *Uncaria tomentosa* foi de grande importância para este trabalho. Pois a Química verde tem destacado esses solventes (DES) como uma nova alternativa, a fim de substituir os solventes convencionais, fazendo com que tornem-se potencialmente mais eficientes.

Foi avaliado que os resultados obtidos foram similares ao resultado encontrado na extração do material vegetal apenas com etanol. Tendo em vista o conhecimento das propriedades da planta, mais estudos precisam ser realizados com diferentes concentrações e quantidade de DES, podendo assim, estimular e direcionar a continuidade da pesquisa em outros testes experimentais

7 REFERÊNCIAS

AMERICAN LABORATORY TRADING. **Thermo Spectronic Genesys 10 UV-Visible Spectrophotometer**. Spectroscopy. Disponível em:

<http://americanlaboratorytrading.com/lab-equipment-products/thermo-spectronic-genesys-10-uv-visible-spectrophotometer_8036>. Acesso em 12 jul 2018.

ARCHELA, E. et al., Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão
Determination of Phenolic Compounds in Wine: A Review, **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013.

BIESKI, I. G. C. **Utilização de medicamentos fitoterápicos com ênfase na Uncaria tomentosa Will, dispensados em farmácias de manipulação na grande Cuiabá**, Especialização em Farmacologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

BUBALO, M. C. et al., Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents, **Food Chemistry**, University of Zagreb, Croatia, v. 200, p.159–166, 2016.

DAI. Y. et al., Natural deep eutectic solvents as new potential media for green Technology, **Analytica Chimica Acta**, Leiden University, The Netherlands, v. 766, p. 61-68, 2013a.

DAI, Y. et al., Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents in Natural Products Research: Mixtures of Solids as Extraction Solvents, **Journal of Natural Products**, Leiden University, The Netherlands, v. 76, p. 2162–2173, 2013b.

DUAN, L. et al., Comprehensive Evaluation of Deep Eutectic Solvents in Extraction of Bioactive Natural Products, **ACS Sustainable Chem. Eng.**, China Pharmaceutical University, People's Republic of China, n.4, p. 2405–2411, 2016.

DURAND E. et al., Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, France, v. 65, p. 3591–3601, 2017.

EMMA L. S. et al., Deep Eutectic Solvents (DESs) and Their Applications, **Chem. Rev.**, University of Leicester, United Kingdom, v. 114 (21), p. 11060–11062, 2014.

FERREIRA, V. F. et al., Química Verde, Economia Sustentável e Qualidade de Vida, **Revista Virtual de Química**, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, v. 6, n.1, p. 87, 2013.

HONÓRIO.I. C. G., Uncaria tomentosa and Uncaria guianensis an agronomic history to be written, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 8, p.1401-1410, 2016.

LOPES, E. F. et al., **Síntese Estereosseletiva de Selenetos Vinílicos utilizando Solvente Eutético Profundo – DE**, In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 37^a, 2014, Rio Grande do Norte. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/37ra/cdrom/resumos/T1109-1.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2016.

SILVA M. L. C. et al., Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

STAHL J. M., **Análise De Compostos Fenólicos De 10 Variedades De Uva**, Trabalho de Conclusão de curso, Graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biociências da UNESP, São Paulo, 2011.

OLIVEIRA A. C. et al., Fontes vegetais naturais de antioxidantes, **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

OLIVEIRA, L. M. C. et al., **Síntese e caracterização de novos líquidos iônicos**, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS CAMPOS DO JORDÃO, 19^o, 2010, São Paulo. Disponível em: <http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/42/050/42050100.pdf>. Acesso em: 22 out. 2016.

POLLITO P. A. Z., **Dendrologia, anatomia do lenho e “status” de conservação das espécies lenhosas dos gêneros cinchona, croton e uncaria no estado do acre, brasil**, 2004. Tese (Doutorado em Recursos Florestais com opção em Silvicultura e Manejo Florestal), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RODRIGUES, T. L. et al., Determinação de polifenóis extraíveis totais, POP, Universidade Federal da Paraíba, 2014.

SILVA, T. B. **Líquidos iônicos – Alguns aspectos sobre as propriedades, preparação e aplicações**, Monografia, Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, p. 1-2, 2004.

TAYLOR, L., Technical data report for Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*). **Sage Press Inc.**, p.38, 2002.

VALENTE, L. M. M., et al., Unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. e *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel.]: Um Panorama Sobre seus Aspectos mais Relevantes, **Revista Fitos**, João Pessoa, v. 2, n.1., p. 48-58, 2006a.

VALENTE, L. M. M., et al., Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia a em camada delgada para determinação do perfil de alcaloides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-mericanas do gênero *Uncaria*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p. 216-223, 2006b.

VIEIRA V. et al., Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deep eutectic solvents from *Juglans regia* L., **Industrial Crops & Products**, v. 115, p. 261–271, 2018.

WHO., **Monographs on selected medicinal plants**. Geneva, World Health Organization, v.3, p. 397, 2007.